

N° d'enregistrement

au C.N.R.S. A.O. 3.827

ARTICLE PRINCIPAL

Recouvrant en partie

LA THESE DE DOCTORAT ES SCIENCES : NATURELLES

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES

de PARIS

par

Pierre MONGIN

pour obtenir

le grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la thèse : Physiologie de la formation de la coquille
de l'oeuf chez les oiseaux. - Rôle de l'é-
quilibre acido-basique.

soutenue le 13 décembre 1969 devant la Commission d'Examen

MM	C. THIBAUT	Président
	F. MOREL	Examineur
	J.P. GELOSO	Rapporteur

N° d'enregistrement

au C.N.R.S. A.O. 3.827

ARTICLE PRINCIPAL

Recouvrant en partie

LA THESE DE DOCTORAT ES SCIENCES : NATURELLES

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES

de PARIS

par

Pierre MONGIN

pour obtenir

le grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la thèse : Physiologie de la formation de la coquille de l'œuf chez les oiseaux. - Rôle de l'équilibre acido-basique.

soutenue le 13 décembre 1969 devant la Commission d'Examen

MM C.	THIBAUT	Président
F.	MOREL	Examinateur
J.P.	GELOSO	Rapporteur



ÉQUILIBRE ACIDO-BASIQUE DU SANG ET FORMATION DE LA COQUILLE DE L'ŒUF

P. MONGIN et L. LACASSAGNE

*Station de Recherches avicoles,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 — Jouy-en-Josas*

SOMMAIRE

Nous avons mesuré sur le sang veineux de 8 poules domestiques le pH, la $p\text{CO}_2$ et la teneur en bicarbonates du sang au cours de la formation de la coquille du deuxième œuf de la série. Cette formation a une incidence directe sur l'équilibre acido-basique du sang. Dès que l'œuf pénètre dans l'utérus une acidose se développe et atteint son maximum 22 h après l'oviposition précédente. A ce moment, on observe une chute de la bicarbémie partiellement compensée par une baisse de la $p\text{CO}_2$. Ces variations doivent être attribuées au passage à travers l'utérus des bicarbonates nécessaires à la formation de la coquille comme le montre une étude parallèle effectuée sur 3 coqs pris comme animaux témoins.

Chez la poule domestique, la coquille de l'œuf renferme environ 5 g de carbonate de calcium dont 2 g de Ca^{++} et 3 g de CO_3^{--} . L'os, constitué essentiellement de phosphate représente une réserve de calcium, mais il ne peut fournir les ions carbonates nécessaires à la formation de la coquille.

GUTOWSKA et MITCHELL, en 1945, à la suite d'une étude sur l'anhydrase carbonique, ont émis l'idée que les carbonates de la coquille proviennent des bicarbonates du sang. A notre connaissance, cette hypothèse n'a jamais été vérifiée. Si elle est fondée, l'équilibre acido-basique du sang devrait être perturbé durant la formation de la coquille puisque les bicarbonates constituent la majeure partie des réserves alcalines.

Nous avons donc entrepris l'étude des variations de la concentration en ions CO_3H^- , du pH et de la $p\text{CO}_2$ dans le sang de la poule au cours de la sécrétion de la coquille ⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Le présent article complète la note déjà publiée (MONGIN et LACASSAGNE, 1964).



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549930_0042

MÉTHODE EXPÉRIMENTALE

1. Animaux

Les observations ont été faites sur 8 poules et 3 coqs *Rhode* $\times$ *Wyandotte M.* 41 âgés d'un an, laissés à demeure dans une pièce climatisée et habitués à la présence de l'homme. Les poules étaient placées dans des cages individuelles permettant l'enregistrement automatique de l'heure de ponte. Le régime lumineux était un nycthémère de 24 h comprenant 14 h de lumière et 10 h d'obscurité. Enfin les animaux étaient nourris *ad libitum* avec un aliment standard.

2. Prélèvements

Les prélèvements de sang ont été faits sur la veine alaire gauche par la méthode de la canule permanente. A la suite d'une courte anesthésie locale à la xylocaïne à 2 p. 100, un cathéter de polyéthylène de 0,90 mm de diamètre fut mis en place de la manière suivante : dégarnie, la veine est percée à l'aide d'une fine aiguille hypodermique et le cathéter, effilé à son extrémité, est forcé dans cet orifice et introduit de 2 cm environ. Ensuite le cathéter est fixé dans le muscle adjacent par 2 fils et la peau est recousue. Il n'y a jamais de ligature, même temporaire, de la veine si bien que cette méthode n'entraîne jamais l'arrêt de la circulation veineuse durant l'expérience.

La canule étant dirigée vers le cœur, on obtient un écoulement naturel du sang par une légère pression sur la partie céphalique de la veine. Après chaque prélèvement, on injecte 2 ml d'une solution d'héparine à 1 p. 1 000 dans la canule qui est ensuite fermée par un bouchon de cire. Le procédé évite la coagulation du sang car la canule est toujours remplie d'héparine.

Lors de la prise d'échantillon sur l'animal placé debout, on laisse la canule se vider de son héparine (1 ml environ) puis on recueille le sang dans un capillaire de verre de façon telle qu'il n'y ait aucun contact avec l'air. Le capillaire, bouché aux extrémités par de la cire, renferme quelques cristaux d'héparine ainsi qu'une tige métallique de quelques millimètres qui permet, à l'aide d'un aimant, une dissolution homogène de l'héparine. Une telle préparation est toujours satisfaisante car elle évite la coagulation du sang ; la quantité prélevée est très faible : 80 μ l. Les erreurs qui pourraient provenir d'une hémodilution sont ainsi évitées. Chaque prélèvement est constitué de 4 capillaires de verre numérotés de 1 à 4, ce qui représente 0,320 ml de sang.

Les prélèvements sont faits à heure régulière (fig. 1) l'oviposition étant considérée comme temps zéro. Outre les stades essentiels de la formation des différentes parties de l'œuf, nous avons retenu le temps de 22 h après l'oviposition car, au cours d'essais préliminaires, il nous est apparu que ce stade correspondait à la valeur minimum du pH.

3. Méthodes de mesures

Sur chaque prélèvement nous avons mesuré le pH, la $p\text{CO}_2$ en millimètres de mercure et la concentration des ions bicarbonates en milliéquivalents par litre.

Le pH est mesuré à l'aide d'une microélectrode thermostatée à 41,5°C (Radiometer : type E 5021) et d'un pH-mètre (Radiometer : type 3) qui permet d'évaluer le 0,05 d'unité pH en valeur relative. Afin de tester l'homogénéité de chaque prélèvement, le pH réel est mesuré sur les capillaires 1 et 4 et lorsque ces deux valeurs diffèrent de plus de un centième d'unité, l'échantillon est rejeté. Dans cas le contraire, la valeur du capillaire 4 est considérée comme la valeur du pH réel.

La $p\text{CO}_2$ est évaluée graphiquement par la méthode de SIGGAARD ANDERSEN (1962) en équilibrant le sang des capillaires 2 et 3 avec des $p\text{CO}_2$ connues dans un tonomètre thermostaté (Radiometer : type AMT 1). Pour ce faire, nous disposions de 2 bouteilles remplies d'un mélange oxygène-anhydride carbonique dans les proportions suivantes :

$$\text{O}_2 = 96 \text{ p. } 100 \quad \text{CO}_2 = 4 \pm 0,1 \text{ p. } 100.$$

$$\text{et} \quad \text{O}_2 = 92 \text{ p. } 100 \quad \text{CO}_2 = 8 \pm 0,1 \text{ p. } 100.$$

Au cours de toute l'expérience, nous avons utilisé les mêmes bouteilles afin de ne pas cumuler

erreurs de composition des mélanges. La $p\text{CO}_2$ du gaz issu de ces bouteilles était calculée de la manière suivante :

$$p\text{CO}_2 = \frac{(B - T) \text{CO}_2\%}{100} \text{ mm de Hg.}$$

B : pression barométrique lue à chaque prélèvement en mm de Hg.

T : tension saturante de vapeur d'eau à 41,5°C soit 60 mm de Hg.

$\text{CO}_2\%$: teneur en CO_2 de la bouteille de gaz.

La concentration des ions bicarbonates est calculée à partir de l'équation d'Hasselbach Henson :

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{\text{CO}_3\text{H}^-}{a \cdot p\text{CO}_2}$$

a = constance de solubilité du CO_2 dans l'eau à 41,5°C soit 0,0278 ;

$\text{pK}' = 6,070$ (1) calculé à partir des résultats de SEVERINGHAUS (1956).

Dans le but de normaliser les résultats, nous nous sommes toujours astreints à faire nos observations durant la formation du 2^e œuf de la série.

De plus, il est à noter que les mesures sont toujours faites dans les 30 mn qui suivent le prélèvement ; on évite ainsi les méfaits de la conservation des échantillons sur les valeurs du pH (PORTY et coll., 1965). De même, pour la teneur utilisée, l'héparine n'avait aucun effet sur les mesures (JØGGAARD ANDERSEN, 1960). Remarquons enfin que nous avons négligé le taux de saturation en oxygène de l'hémoglobine puisque les mesures ne comportaient pas de comparaison entre sang artériel et sang veineux.

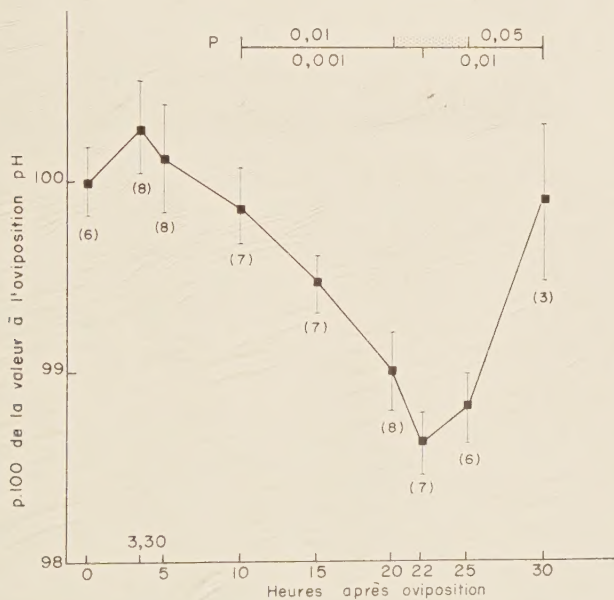


FIG. 1. — Variation du pH veineux général durant la formation de l'œuf

aque point correspond à la moyenne $\pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$ des observations dont le nombre est indiqué entre parenthèses.

valeur 100 correspond à un pH de 7,52.

indique le seuil de signification de la différence entre 2 moyennes trouvées aux limites de l'intervalle de temps indiqué par 2 barres verticales. Les zones pointillées indiquent que la différence n'est pas significative au seuil de 5 p. 100.

(1) Lorsque nous avons fait ce travail, nous n'avions pas encore connaissance des résultats de HELBACKA coll. (1964) qui ont mesuré le pK' sur le sang de la poule. Toutefois, notre estimation de pK' diffère très peu de la leur, compte tenu du fait que nous travaillons à 41,5°C au lieu de 41°C.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'évolution du pH veineux général (fig. 1) fait apparaître une légère alcalose au moment où l'œuf passe dans le magnum et dans l'isthme. Ensuite, une acidose se développe régulièrement dès que l'œuf pénètre dans l'utérus. Elle atteint un maximum 22 h après l'oviposition, puis le pH revient à la valeur normale.

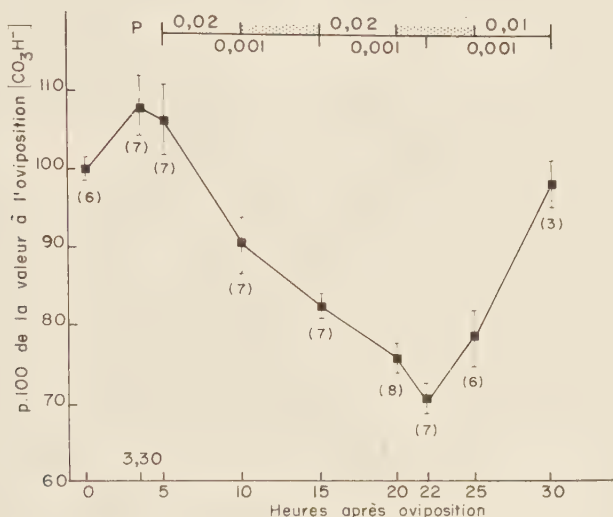


FIG. 2. — Variation de la concentration en bicarbonates du sang veineux général durant la formation de l'œuf

Voir légende de la figure 1.

La valeur 100 correspond à une bicarbémie de 29,6 méq/l.

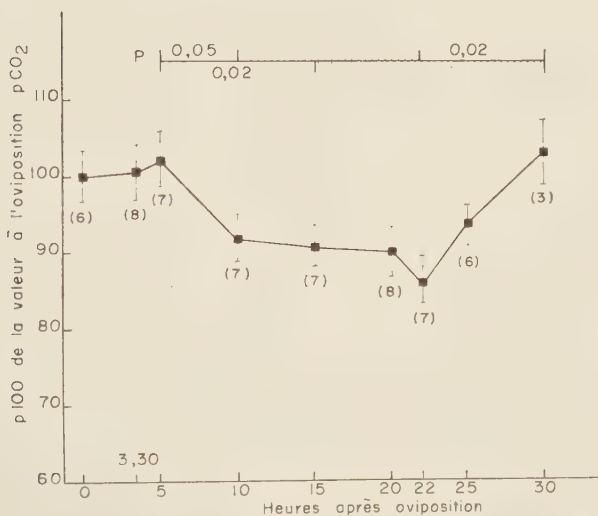


FIG. 3. — Variation de la pression partielle d'anhydride carbonique dans le sang veineux général durant la formation de l'œuf

Voir légende de la figure 1.

La valeur 100 correspond à une pCO₂ de 37,7 mm de mercure.

La bicarbémie veineuse (fig. 2) suit la même évolution et chute de 30 p. 100 22 h après l'oviposition. De même, la $p\text{CO}_2$ (fig. 3) accuse une évolution parallèle, mais avec une amplitude moindre que celle des bicarbonates puisque la chute maximum est de 15 p. 100.

Une représentation graphique (fig. 4) dans un système de coordonnées tridimensionnelles (DAVENPORT, 1962) montre que l'évolution de l'équilibre acido-basique du sang entre 5 et 22 h après l'oviposition correspond à une acidose d'origine métabolique étant donné qu'il y a perte d'ions CO_3H^- . Cette acidose est partiellement compensée par une chute de la $p\text{CO}_2$ sanguine.

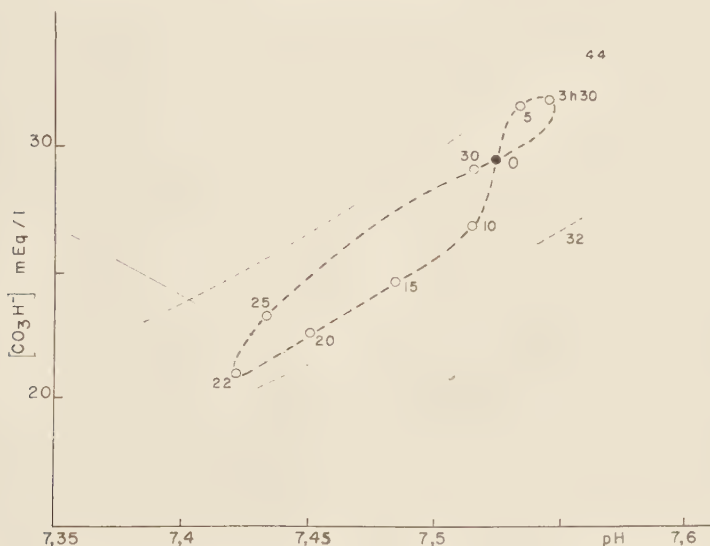


FIG. 4. — Variation de l'équilibre acido-basique du sang veineux durant la formation de l'œuf

— — — ligne tampon normale du sang.

- - - - isobares de la $p\text{CO}_2$ (lieu géométrique des points pour lesquels la $p\text{CO}_2$ doit être égale à une valeur donnée lorsque dans l'équation d'Hasselbach Henderson le pH et la concentration en bicarbonate varient). Les chiffres 0 indiquent le nombre d'heures après l'oviposition de l'œuf précédent.

Si l'on admet que cette perte d'ions bicarbonate se fait par voie rénale et ne représente rien d'autre qu'une variation diurne, on devrait retrouver ce phénomène chez le mâle.

Or, sur les 3 coqs *Rhode* - *Wyandotte* *M II* nous n'avons pas trouvé de variation de ce genre lorsque nous avons fait, d'une manière parallèle, la mesure de l'équilibre acido-basique du sang. A aucun moment de la journée, le pH, la $p\text{CO}_2$ et la bicarbémie n'ont évolué de manière significative, si bien que pour déterminer la plage normale de variation de l'équilibre acido-basique chez le coq nous avons regroupé la totalité des 29 prélèvements effectués.

Il en est de même chez la poulette 7 jours avant la ponte du premier œuf (fig. 5).

Il apparaît alors que l'évolution de l'équilibre acido-basique du sang chez la poule en ponte est liée à la formation de l'œuf, et que la perte d'ions bicarbonate se fait au niveau de l'utérus puisque l'acidose se développe durant l'hydratation de l'albumen et la formation de la coquille.

Lors de son hydratation dans l'utérus, l'albumen s'enrichit en ions et en particulier en bicarbonates qui seraient un des facteurs de sa qualité structurale. D'après

BROOKS et PAGE (1938), il renferme en moyenne 0,055 mole par litre soit environ 107 mg de bicarbonates au total. On peut alors penser que le prélèvement de ces ions dans le sang est à l'origine de l'acidose qui commence à se développer 5 h après l'oviposition. Il semble cependant plus vraisemblable d'admettre que c'est le CO_2 qui diffuse vers l'albumen et non pas les bicarbonates car la $p\text{CO}_2$, comme telle, agit sur la structure de l'albumen *in vitro* (BROOKS et PAGE, 1938) et *in vivo* (HELBACKA et coll., 1964).

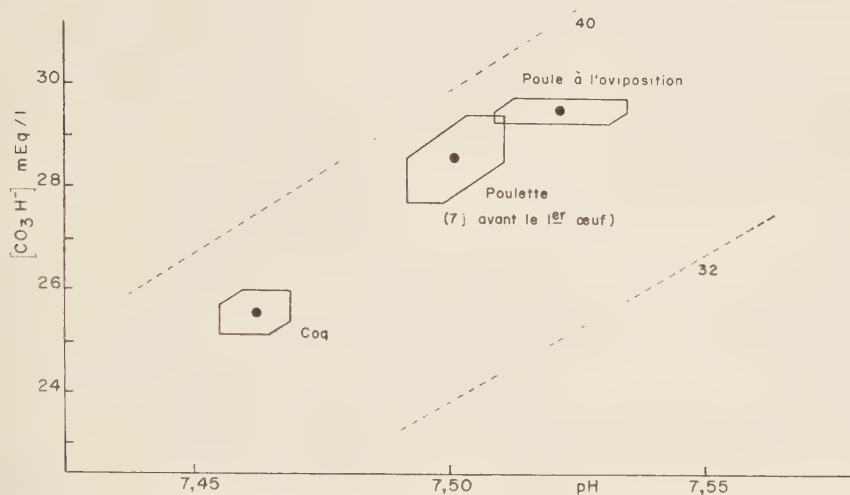
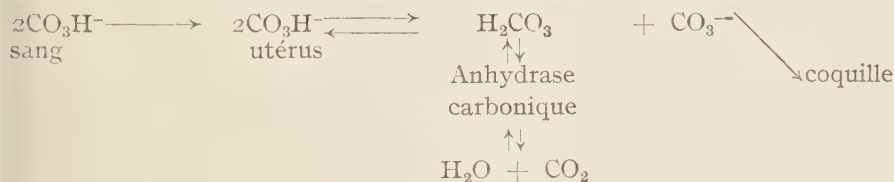


FIG. 5. — Plage normale de variation de l'équilibre acido-basique du sang, chez le coq, chez la poulette 7 jours avant la ponte du 1^{er} œuf, et chez la poule au moment de l'oviposition.

----- isobares de la $p\text{CO}_2$ (40 et 32 mm de Hg)

À l'opposé, il apparaît que pour la coquille ce sont les bicarbonates qui se trouvent à l'origine des carbonates selon le schéma de GUTOWSKA et MITCHELL (1945).



En étudiant l'anhydrase carbonique de l'utérus DIAMANTSTEIN et SCHLUNS (1964) ont en effet montré que l'ion CO_3H^- est sécrété dans la lumière de l'utérus et cette présence de bicarbonates est chimiquement indispensable à la précipitation locale du carbonate de calcium sous forme de calcite (BACKRA et coll., 1963).

CONCLUSIONS

1^o Si l'on compare les variations de la calcémie et de l'équilibre acido-basique du sang en liaison avec la formation de la coquille, on doit noter que la formation des carbonates est beaucoup plus éprouvante que la sécrétion du calcium. En effet,

il est très difficile de mettre en évidence les variations de la calcémie dans la circulation générale, alors que la bicarbémie générale accuse en fin de calcification un déficit de 30 p. 100. On peut donc penser que tout facteur, capable de modifier l'équilibre acido-basique du sang, se répercute sur la formation de la coquille.

2° La baisse de la $p\text{CO}_2$ sanguine, indispensable au maintien du pH dans les limites physiologiques, implique une régulation pulmonaire et une variation du débit ventilatoire en liaison avec le dépôt de la coquille. Cette conséquence normale, tirée des résultats précédents vient d'être vérifiée (MONGIN et LACASSAGNE, 1965) et laisse présager une action possible du CO_2 sur la formation de la coquille par voie pulmonaire.

3° Chez les vertébrés, la régulation de la bicarbémie se fait normalement par le rein qui réabsorbe plus ou moins des bicarbonates filtrés. Or chez la poule nous venons de montrer que l'utérus est aussi un organe d'excrétion des bicarbonates. Il est donc vraisemblable qu'il s'établit un équilibre entre les deux, mais lors d'un stress le rein est-il prioritaire ou compétitif?

De plus, la formation de la coquille modifie l'équilibre normal des ions filtrés en prélevant en particulier, l'un des ions négatifs essentiels; l'équilibre se rétablit-il par les chlores ou les phosphates? Autant de questions relatives à la physiologie rénale que nous essayons actuellement d'éclaircir en liaison avec la formation de la coquille.

Reçu pour publication en décembre 1965.

SUMMARY

BLOOD ACID-BASE BALANCE AND SHELL FORMATION

Venous blood pH, $p\text{CO}_2$ and bicarbonate concentration were estimated during the shell formation of the second egg in the clutch, on eight domestic hens. $p\text{CO}_2$ was estimated according to SIGGAARD ANDERSEN's method and percentage of bicarbonates by means of HASSELBACH-HENDERSON's equation.

Shell formation has direct influence on blood acid-base balance. As soon as the egg enters the uterus, an acidosis arises and reaches a maximum 22 hours after the oviposition of the previous egg taken as time of reference. At this moment, we noticed a 30 per cent bicarbonates drop, partly balanced by a 15 per cent $p\text{CO}_2$ decrease. These variations must be attributed to the excretion into uterus of the bicarbonates required by the shell formation, as shows a parallel investigation on 3 control cocks.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BACHERA B. N., TRAUTZ O. R., SIMON S. L., 1963. Precipitation of calcium carbonate and phosphate I. Spontaneous precipitation of calcium carbonate and phosphate under physiological conditions. *Arch. Bioch. Biophys.*, **103**, 124-138.
- BROOKS J., PACE J., 1938. The distribution of carbon dioxide in the hens's egg. *Proc. roy. Soc. London* (Série B), **126**, 196-209.
- DAVENPORT H. W., 1962. *The A, B, C, of acid base chemistry*. The University of Chicago Press.
- DIAMANTSTEIN T., SCHLUNS J., 1964. Lokalisation und Bedeutung der Karboanhydrase in uterus von Legehennen. *Acta Histochem.*, **19**, 296-302.

- GUTOWSKA M. S., MITCHELL C. A., 1945 Carbonic anhydrase in the calcification of the egg shell. *Poultry Sci.*, **24**, 159-168.
- HELBACKA N. V., CASTERLINE J. L., SMITH C. J., 1963. The effect of high CO_2 atmosphere on the laying hen. *Poultry Sci.*, **42**, 1082-1084.
- HELBACKA N. V., CASTERLINE J. L., SMITH C. J., SHAFFNER C. S., 1964. Investigation of plasma carbonic acid pK' of the chicken. *Poultry Sci.*, **43**, 138-144.
- MONGIN P., LACASSAGNE L., 1964. Physiologie de la formation de la coquille de l'œuf de poule et équilibre acido-basique du sang. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **258**, 3093-3094.
- MONGIN P., LACASSAGNE L., 1965. Physiologie de la formation de la coquille de l'œuf de poule et ventilation pulmonaire. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **261**, 4228-4229.
- MONGIN P., LACASSAGNE L., 1966. Rythme respiratoire et physiologie de la formation de la coquille de l'œuf. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **6** (1), 101-111.
- PORTNOY H. D., THOMAS L. M., GURDJIAN E. S., 1965. Storage of blood for measurement of pH, PO_2 , $p\text{CO}_2$. *Clin. Chim. Acta*, **11**, 268-269.
- SEVERINGHAUS J. W., STAFFEL M., BRADLEY A. F., 1956. Variations of serum carbonic acid pK' with pH and temperature. *J. appl. Phys.*, **9**, 197-200.
- SIGGAARD ANDERSEN O., ENGEL K., 1960. A new acid-base nomogram. An improved method for the calculation of the relevant blood acid-base data. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.*, **12**, 177-196.
- SIGGAARD ANDERSEN O., 1961. Sampling and storing of blood for determination of acid-base status. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.*, **13**, 196-204.
-

RYTHME RESPIRATOIRE ET PHYSIOLOGIE DE LA FORMATION DE LA COQUILLE DE L'ŒUF

P. MONGIN et L. LACASSAGNE

avec la collaboration technique de Denise DUBOIS

*Station de Recherches avicoles,
Centre national de Recherches zootechniques, 78-Jouy-en-Josas*

SOMMAIRE

Le rythme respiratoire nocturne est significativement plus élevé chez la poule qui forme une coquille que chez la même poule ne formant pas de coquille. Cette ventilation pulmonaire accrue compense l'acidose métabolique due au transfert d'ions CO_3H^- vers la coquille.

Le passage de l'état de veille à l'état de sommeil freine la mobilisation des bicarbonates, alors que le passage inverse l'accélère.

Puisque la fonction pulmonaire agit sur la formation de la coquille nous donnons une explication possible de l'action du CO_2 inhalé sur le dépôt du carbonate de calcium. Ces conclusions permettraient alors de comprendre pourquoi les coquilles sont faibles en été.

Nous avons montré que l'équilibre acido-basique du sang de la poule est perturbé durant la formation de la coquille (MONGIN et LACASSAGNE, 1964) et que « l'acidose métabolique » due à la perte d'ions bicarbonates est compensée par une « alcalose ventilatoire ». Puisque la pression partielle de gaz carbonique du sang est régulée par voie pulmonaire, nous avons recherché dans quelle mesure la ventilation pulmonaire varie durant la formation de la coquille (1).

MÉTHODE EXPÉRIMENTALE

Des animaux, croisés *Rhode-Island* $\times$ *Wyandotte* souche M 41, sont élevés deux mois avant l'expérience dans des cages individuelles placées dans des chambres conditionnées. La température est maintenue constante à $20^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ et l'hygrométrie à 55 ± 5 p. 100. Les cellules sont insonorisées

(1) Cet article complète la note parue dans *C. R. Acad. Sci.*, Fr. **261**, 4228-4229.

qui nous a permis d'utiliser un rythme lumineux inversé en nyctémère de 24 h, la période de nuit étant de 9 h à 19 et la période d'éclairement de 19 à 9 h.

On habitue chaque animal à être entravé par un collier et un anneau de cuir à chaque patte durant 15 jours avant le début de l'expérience afin d'effectuer les mesures sur un animal à comportement normal.

L'enregistrement du rythme respiratoire se fait au moyen d'un thermocouple cuivre-constantan placé à la sortie de la narine gauche. Le thermocouple, monté sur une microprise mâle, est amovible et se relie à une microprise femelle située sur la partie antérieure de la crête et fixée par 2 fils nylon. De cette prise sortent deux conducteurs de cuivre isolés sous double gaine de caoutchouc et plastique, ils passent ensuite sous la peau de l'arrière de la crête jusqu'à la base du cou où ils sont fixés au collier de cuir et se rendent ensuite à un enregistreur galvanométrique (Sefram, type GRV).

La mise en place du dispositif se fait durant une courte anesthésie à l'éther. S'ils sont progressivement et suffisamment entraînés à supporter l'équipement, les animaux se comportent normalement et pondent régulièrement. Les variations de température au niveau de la soudure créent une variation de potentiel où chaque cycle thermique est lié à un cycle respiratoire.

RÉSULTATS

1. *Temps minimum d'enregistrement*

Afin de normaliser les résultats nous avons recherché quel était le temps minimum d'enregistrement en comparant les rythmes respiratoires moyens par minute.

Une analyse de variance, faite sur 60 résultats, montre que les fréquences respiratoires enregistrées pendant 5, 10 et 15 mn ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 p. 100. L'erreur faite sur un temps de comptage de 5 mn par rapport à des temps de comptage de 10 et 15 mn sont respectivement de $\pm 0,2$ et $\pm 0,4$ p. 100. Les résultats qui suivent sont donc exprimés en rythme respiratoire moyen par minute calculé sur un temps d'enregistrement de 5 mn.

2. *Temps de mise au repos*

L'enregistrement du R.R. diurne pose un certain nombre de problèmes, tel que variations du R.R. en fonction de l'activité de l'animal et également difficulté de comptage durant l'ingestion de nourriture car la poule respire très irrégulièrement.

La coquille se forme la nuit ; nous avons donc décidé de faire les enregistrements la nuit et non durant toute la formation de l'œuf. Les mesures sont prises au moment de l'extinction de la lumière, puis à intervalles réguliers au cours du sommeil de l'animal.

Après l'extinction de la lumière la poule ne cesse toute activité qu'au bout d'un certain temps qui paraît très constant et que nous avons chiffré à $57,5 \pm 3,4$ mn sur un lot de 8 animaux. Durant cette période de transition le rythme respiratoire se modifie en baisse puis se stabilise une fois atteint le stade de sommeil profond. Si l'on observe la décroissance de la fréquence respiratoire, on constate que la chute par rapport à la valeur à l'extinction est beaucoup plus faible chez la poule qui forme un œuf que pour celle qui est en pause. Chez cette dernière, le changement de rythme est brutal au moment du sommeil comme chez le coq (fig. 1).

3. Rythme respiratoire et formation de la coquille

Une analyse de variance ayant montré que le rythme respiratoire est lié à l'individu ($P < 1$ p. 100), chaque poule est considérée comme son propre témoin de la manière suivante : Pour une même poule, nous avons comparé le rythme respiratoire nocturne durant la formation de la coquille du dernier œuf de la série au

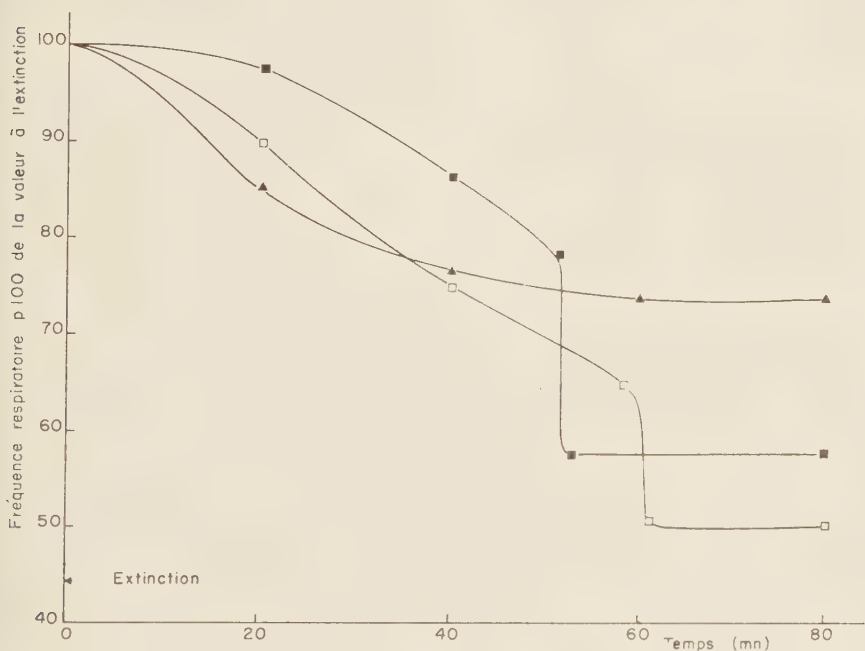


FIG. 1. — Chute du rythme respiratoire durant le passage de l'état de veille à l'état de sommeil chez le coq, chez la poule en pause et chez la poule lors de la formation de l'œuf

■ coq ;
 □ poule durant la pause ;
 ▲ poule durant la formation de l'œuf.
 Chaque point est la moyenne obtenue sur 5 animaux.

rythme respiratoire durant la nuit de pause suivante. Chaque valeur des tableaux 1 et 2 correspond à la moyenne de plusieurs mesures, dont le nombre est indiqué entre parenthèses, d'une durée de 5 mn et effectuées durant les 7 dernières heures de la nuit, en période de sommeil profond.

Les résultats groupés dans le tableau 1 montrent que les différences de R.R. sont hautement significatives même avec un petit nombre d'observations (cf. poule n° 1). Pour l'ensemble des poules, le rythme respiratoire chute de 38 p. 100 au moment de la pause et on n'observe pas d'évolution du R.R. durant le sommeil, qu'il y ait ou non une coquille en formation.

Néanmoins avec la poule n° 3, nous avons pu enregistrer une augmentation du R.R. entre 12 et 18 h après l'oviposition précédente, augmentation qui coïncide

TABLEAU I

Fréquence respiratoire durant la formation de la coquille et en l'absence de calcification
(Période de sommeil profond)

Poule n°	Période de formation de coquille	Période sans formation de coquille
1	(6)* 10,5 ± 0,4**	(4) 7,7 ± 0,1***
2	(10) 10,7 ± 0,2	(4) 7,2 ± 0,2
3	(7) 11,3 ± 0,3	(7) 6,4 ± 0,1
4	(11) 13,2 ± 0,4	(13) 7,7 ± 0,1
5	(24) 13,5 ± 0,2	(23) 7,3 ± 0,1
Moyenne	11,8 ± 0,6	7,2 ± 0,2

* Nombre d'enregistrement de 5 minutes

$$** \text{ Moyenne} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

*** Pour chaque poule la différence entre les deux valeurs est significative : $P < 0,1$ p. 100 (test de t).

TABLEAU 2

Fréquence respiratoire chez le coq en période de sommeil profond

Coq n°	Fréquence respiratoire nocturne
1	(9)* 7,7 ± 0,1**
2	(5) 6,3 ± 0,2
3	(10) 7,0 ± 0,1
4	(7) 7,4 ± 0,3
5	(6) 7,3 ± 0,1
Moyenne	7,2 ± 0,2

* Nombre d'enregistrement de 5 minutes

$$** \text{ Moyenne} \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

avec le début de la calcification intense puisque le temps de formation de cet œuf est de 27 h (fig. 2). On peut noter la constance du R.R. durant la pause, constance que l'on observe également chez les coqs.

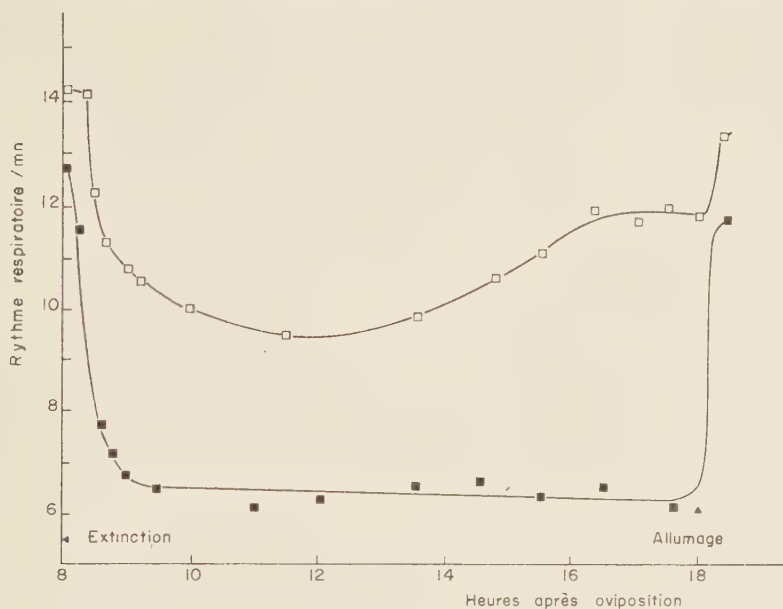


FIG. 2. — Chez la même poule, variation du rythme respiratoire nocturne durant la formation du dernier œuf de la série (□) et durant la pause suivante (■).

DISCUSSION

1. Ventilation pulmonaire et fréquence respiratoire

Il est assez difficile de mesurer chez la poule la ventilation pulmonaire par minute par les méthodes habituelles sans modifier la ponte. C'est la raison pour laquelle nous n'avons mesuré que la fréquence respiratoire. Néanmoins il nous est apparu intéressant de voir si cette fréquence est un reflet fidèle de la ventilation.

En effet, d'après la relation (1), le débit ventilatoire par minute ($\dot{V}$) est fonction du volume courant (V_c) et de la fréquence (f).

$$\dot{V} = V_c \times f \quad (1)$$

En utilisant un thermocouple on ne mesure pas directement V_c , mais la différence ΔT de température entre l'air inspiré et expiré. Or, ces 2 valeurs sont liées par la relation

$$V_c = k \Delta T \quad (2)$$

$$\dot{V} = k \cdot \Delta T \cdot f \quad (3)$$

En faisant varier f , on mesure ΔT et f , il est possible d'évaluer $\dot{V}$ à une constante près puisque

$$\dot{V}/k = \Delta T \cdot f.$$

Il faut donc chercher ensuite s'il existe une relation entre $\dot{V}/k$ et f .

Pour ce faire, nous avons pris un coq *Rhode Island* $\times$ *Wyandotte* sur lequel nous avons fixé de façon très rigide la soudure du thermocouple au niveau de la narine afin d'éviter des erreurs dans la mesure de ΔT par simple déplacement du thermocouple. Puis nous avons fait varier sa fréquence respiratoire par inhalation de CO_2 (hyperventilation provoquée) soit par ingestion de largactil (hypoventilation provoquée), ce qui nous a permis d'obtenir une gamme de 8 à 23 révolutions respiratoires par minute. La mesure de ΔT fut faite par enregistrement sur papier millimétré avec une très forte amplification et à grande vitesse. Notons enfin que les mesures furent effectuées sur l'animal au repos.

Dans la gamme de fréquence étudiée (8 à 23 mn) nous avons trouvé une relation linéaire entre $\dot{V}$ et f telle que

$$\dot{V}/k = 0,58 f + 2,05 = r = + 0,94.$$

avec un coefficient de régression significativement différent de zéro ($P < 0,1$ p. 100). Par contre, un essai de régression linéaire entre $\dot{V}/k$ et ΔT ne donne pas de résultat significatif ($P > 50$ p. 100). Bien que les 170 valeurs du calcul ne soient relatives qu'à un seul animal, mais vu les résultats, nous pouvons considérer que le débit ventilatoire minute est uniquement fonction de la fréquence et que la mesure de cette dernière suffit pour apprécier la ventilation pulmonaire.

2. Rythme respiratoire et formation de la coquille

La fréquence respiratoire nocturne du coq ($7,15 \pm 0,23$, tabl. 2) n'est pas significativement différente de celle de la poule en pause ($7,24 \pm 0,24$, tabl. 1). On peut donc considérer la fréquence respiratoire de la poule au repos et en pause comme la fréquence physiologique de base et lier l'augmentation du rythme respiratoire à la formation de l'œuf.

Bien qu'il soit impossible de suivre le rythme respiratoire de la poule durant toute la formation de l'œuf dans des conditions identiques puisque l'animal passe par un état de veille puis de sommeil, il est possible de faire durant la formation de la coquille un parallèle entre la fréquence respiratoire et la $p\text{CO}_2$ sanguine. En effet la formation de la coquille déclenche une acidose métabolique que la poule compense par une alcalose respiratoire en éliminant le CO_2 sanguin par augmentation des échanges ventilatoires. Si l'on compare les résultats obtenus avec la poule n° 3, une variation moyenne de la $p\text{CO}_2$ (MONGIN et LACASSAGNE, 1964), l'augmentation du R.R. durant la nuit correspond à un abaissement de la $p\text{CO}_2$.

Malgré cette réponse ventilatoire à l'acidose métabolique durant la nuit, il apparaît que la régulation se fait moins bien entre 10 et 20 h après l'oviposition, pendant et après cette période. En effet, si l'on étudie la fonction $\frac{d(p\text{CO}_2)}{dt} = f(t)$, on constate qu'elle est croissante dans la période qui s'étend de 10 à 15 h après l'oviposition et décroissante dans les périodes 5 à 10 et 20 à 22 h. après l'oviposition (fig. 3). Mais en reprenant nos résultats de 1964 sur l'équilibre acido-basique (fig. 10), nous avons remarqué que cette période se situe la nuit puisque en moyenne l'obscurité avait lieu de 10,10 h à 20,10 h ± 40 mn après l'oviposition. Or nous avons montré plus haut que la nuit en sommeil se déroule durant 58 mn et s'accom-

gagne d'une chute du R.R. de 25 p. 100 (fig. 1). Donc pendant le passage de l'état de veille à l'état de sommeil, la poule hypoventile par rapport à la période d'éclaircissement si bien que la chute de la $p\text{CO}_2$ est inférieure à ce qu'elle devrait être s'il n'y avait pas eu de changement d'état. Le réveil, qui est très rapide, inverse le phénomène, et l'augmentation du R.R. accroît la vitesse de chute de la $p\text{CO}_2$ sanguine.

De même si l'on étudie la courbe $\frac{d(\text{CO}_3\text{H}^-)}{dt} = f(t)$ (fig. 3) on constate que la mise en repos freine le transfert des bicarbonates vers la coquille, alors que le réveil accélère.

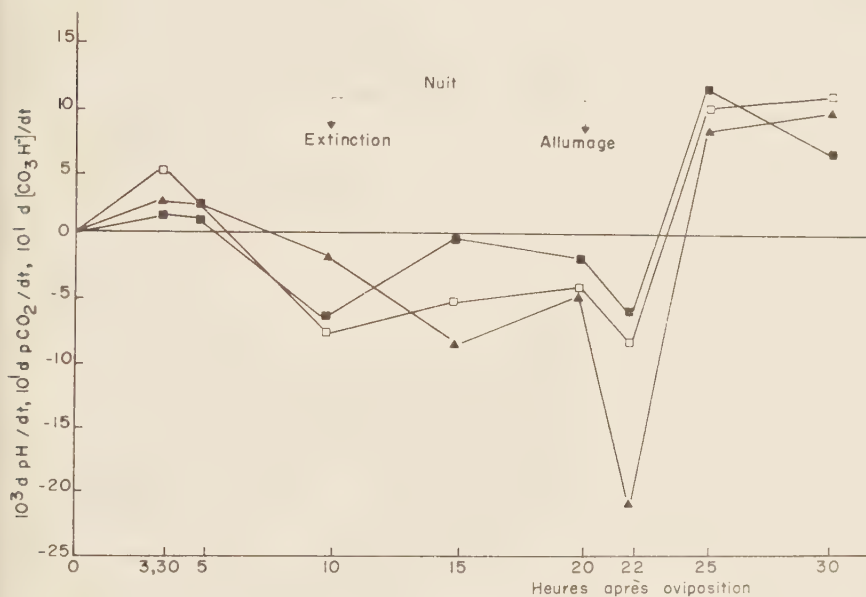


FIG. 3. — Dérivées par rapport au temps des fonctions pH, $p\text{CO}_2$ et (CO_3H^-) obtenues sur le sang veineux général de la poule durant la formation de l'œuf

▲ $dp\text{H}/dt$; ■ $dp\text{CO}_2/dt$; □ $d(\text{CO}_3\text{H}^-)/dt$.

Donc l'étude du R.R. chez la poule durant la formation de la coquille entraîne les conclusions :

- durant le sommeil, l'animal hyperventile pour compenser l'acidose métabolique due à la mobilisation des ions CO_3H^- ;
- une chute du rythme respiratoire, telle que celle observée durant la mise en repos, freine la formation de la coquille ;
- inversement, une augmentation du R.R. facilite la formation de la coquille.

Faite dans le système de coordonnées de DAVENPORT (1962), la figure 4 rend compte du phénomène et permet de penser que la compensation ventilatoire pourrait être beaucoup plus grande si la chute du R.R. n'avait pas lieu durant la nuit.

Cet ensemble de conclusions montre que la fonction respiratoire est étroitement liée à la formation de la coquille et que le transfert des ions bicarbonates ne se fait véritablement que dans la mesure où la ventilation pulmonaire est capable de réguler l'équilibre acido-basique du sang.

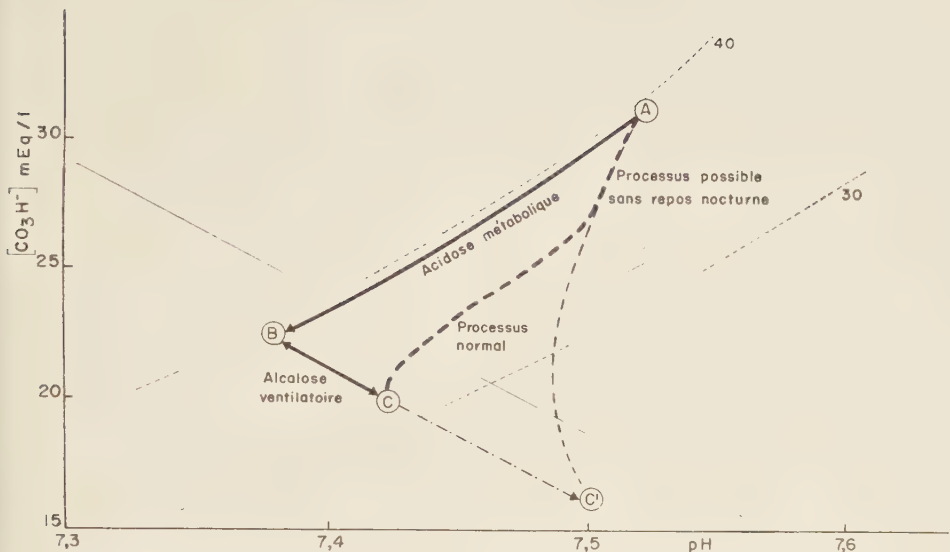


FIG. 4. — Variations comparées entre 0 et 22 h après l'oviposition précédente de l'équilibre acido-basique du sang veineux général de la poule telles que nous les avons mesurées (processus normal) et telles qu'elles seraient s'il n'y avait pas de repos nocturne (processus possible sans repos nocturne).

— ligne tampon normale du sang.

---- isobares 40 et 30 de la $p\text{CO}_2$.

A. Point représentatif normal à l'oviposition.

B. Point représentatif théorique 22 h après l'oviposition s'il n'y avait pas de compensation ventilatoire de l'acidose métabolique.

C. Point représentatif normal 22 h après oviposition.

C'. Point représentatif théorique 22 h. après oviposition ; en l'absence de sommeil, l'alcalose ventilatoire aurait pu se développer normalement.

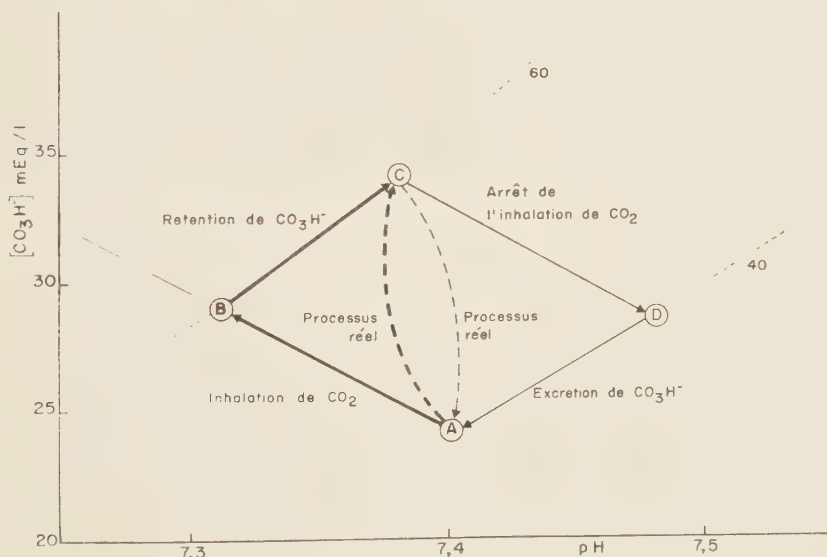


FIG. 5. — Variations de l'équilibre acido-basique du sang lorsque l'on place une poule dans une atmosphère à 5 p. 100 de CO_2 (—) et lorsque l'on supprime le CO_2 (---) (voir fig. 4).

— ligne tampon normale du sang ;

---- isobares 40 et 60 de la $p\text{CO}_2$.

De A en B développement théorique de l'acidose ventilatoire sous l'action du CO_2 , puis de B en C, alcalose métabolique compensatoire et théorique par rétention des bicarbonates. Le tracé CDA est le phénomène inverse.

Il est alors possible d'expliquer les résultats d'HELBACKA et de ses collaborateurs (1963). Ces auteurs placent des poules durant 19 h. dans une atmosphère à 5 p. 100 de CO_2 et constatent une chute de l'épaisseur de la coquille de 4 p. 100. Ce traitement a pour effet une augmentation de la $p\text{CO}_2$ sanguine qui déclenche une alcalose métabolique par rétention des bicarbonates (fig. 5). L'équilibre acido-basique est alors tel (point C) que les bicarbonates sont moins mobilisables car la poule en a besoin pour ramener son pH à une valeur voisine de la normale et ceci aux dépens de la coquille.

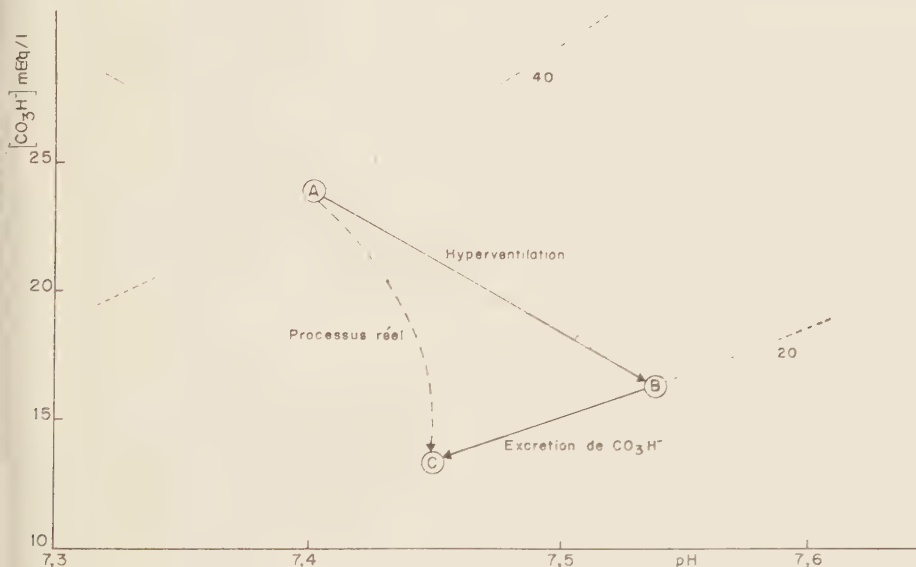


FIG. 6. — Déplacement du point normal de A en C de l'équilibre acido-basique du sang chez la poule en hyperthermie

(voir fig. 4).

— ligne tampon normale du sang,

---- isobares 40 et 20 de la $p\text{CO}_2$.

En éliminant par voie pulmonaire les calories excédentaires la poule entre en hyperventilation qui déclenche une alcalose (A → B) ; puis elle excrète par voie rénale des bicarbonates (B → C) afin de compenser par une acidose métabolique l'élévation du pH sanguin.

Par contre, lorsqu'ils replacent la poule dans une atmosphère normale, l'épaisseur de la coquille augmente de 8 p. 100. Au moment où l'on supprime le CO_2 , une hyperventilation abaisse la $p\text{CO}_2$ et entraîne une excrétion des bicarbonates en excès. Chez les autres espèces, cette excrétion se fait par voie urinaire et il est intéressant de remarquer que, chez la poule, une partie de l'excrétion peut se faire par voie fécale au bénéfice de la coquille.

Ces auteurs ont refait le même traitement, mais à 30° au lieu de 21°C, et observent une diminution de 9 p. 100 de l'épaisseur de la coquille durant l'inhalation de gaz carbonique ; par contre, aucune amélioration n'est constatée après traitement. A cette température, la poule élimine les calories excédentaires par voie respiratoire puisqu'elle ne possède pas de glandes sudoripares, et augmente ainsi ses échanges respiratoires, mais cette hyperventilation d'origine thermique entraîne accessoirement la chute de la $p\text{CO}_2$ sanguine avec excrétion de bicarbonates. (Fig. 6.) A ce stade,

(point C) l'équilibre acido-basique est caractérisé par un pH alcalin, une $p\text{CO}_2$ basse, et une faible concentration en bicarbonates. Donc, lorsqu'on applique le traitement au CO_2 le point de départ est inférieur à celui du cas précédent si bien que la rétention des bicarbonates est également plus grande (Trajet CDE de la figure 7) d'où la baisse accrue de l'épaisseur de la coquille.

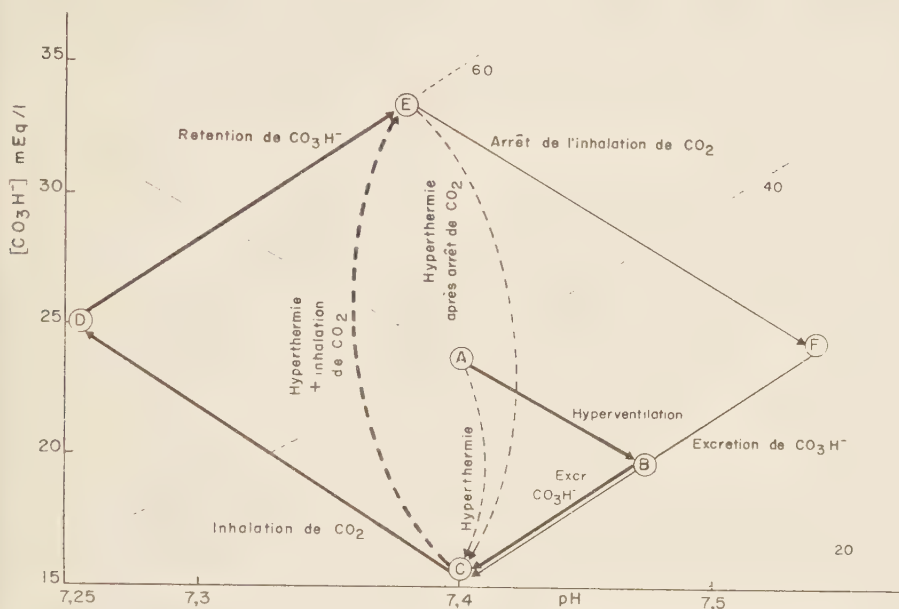


FIG. 7. — Représentation théorique de l'évolution de l'équilibre acido-basique du sang de la poule en hyperthermie placée dans une atmosphère à 5 p. 100 de CO_2 (—) puis replacée en atmosphère normale (---). (voir fig. 4).

— ligne tampon normale du sang,
 --- isobares 60, 40 et 20 de la $p\text{CO}_2$.

ABC (voir fig. 6).
 CDE et EFC (voir fig. 5).

Lorsqu'on supprime le CO_2 , (Trajet EFC de la figure 7) tout en restant à une température de 30°C , la chute de la $p\text{CO}_2$ est compensée par une excrétion rapide des bicarbonates par voie rénale, l'utérus est court-circuité et ne peut bénéficier de l'excès d'ions CO_3H^- . Donc en raison du stress thermique le rein se comporte comme un organe prioritaire dans la régulation du pH car l'état d'équilibre se situe en C et non en A. Il est alors vraisemblable de penser que par fortes chaleurs, le point représentatif de l'équilibre acido-basique du sang est voisin de C, d'ailleurs chez le coq il en est ainsi comme l'ont montré LINSLEY et DURGER (1964), ce qui suffirait à expliquer la fragilité des coquilles en été.

Il est également possible de penser que, chez la poule, l'action de l'équilibre acido-basique du sang sur la formation de la coquille ne se limite pas à la production d'ions bicarbonates, mais agit également sur le métabolisme calcique par l'intermédiaire des ions H^+ , cette interaction étant clairement démontrée chez le chien (FRUTIN et coll., 1965). Une acidose sanguine, telle que celle observée entre 10 et 22 h après oviposition, facilite la dissolution du calcium osseux et limite la chute de la

calcémie. Ces auteurs montrent également qu'après hypocalcémie, une alcalose facilite le retour à la calcémie normale. D'après nos résultats, le pH normal du sang de la poule est nettement alcalin ($7,52 \pm 0,01$) et supérieur à celui du coq ($7,45 \pm 0,02$). Il est en de même chez la poulette quelques jours avant l'entrée en ponte puisque le pH est de $7,51 \pm 0,01$ (MONGIN et LACASSAGNE, 1965). Il apparaît alors que l'équilibre acido-basique chez la poule s'est adapté afin de récupérer plus rapidement après l'hypocalcémie due au dépôt calcique coquillier. Cette liaison entre pH et métabolisme calcique se ferait par l'intermédiaire des parathyroïdes puisque après parathyroïdectomie, l'alcalose n'a aucun effet sur la calcémie (FUJITA et coll., 1965). Comme l'activité de ces glandes endocrines est réglée par la teneur du sang en ions calcium et que cette teneur est fonction de la concentration en ions H^+ , il est possible de concevoir cette médiation hormonale.

L'équilibre acido-basique agirait également au niveau de l'utérus par son pH, puisque le sang veineux utérin est très acide par rapport au sang artériel (HODGES, 1965). Cette forte concentration locale en ions H^+ libérerait le calcium complexé sous forme de protéinate et accroîtrait ainsi le gradient calcique à travers la muqueuse utérine afin de faciliter le transfert du Ca^{++} sanguin vers la coquille.

Reçu pour publication en décembre 1965.

SUMMARY

RESPIRATORY RHYTHM AND PHYSIOLOGY OF THE EGG SHELL FORMATION

The respiratory rhythm of the hen was studied by means of a thermo-couple fixed on the nostril. It was recorded during the night only, for the normal activity of the hen during the day disturbs estimations. The respiratory rhythm of a resting hen during the night (7.26 ± 0.24) and that of the cock (7.15 ± 0.23) are similar, but during the shell formation, the respiratory rhythm of the hen significantly increases (11.8 ± 0.6). This increased pulmonary ventilation balances a metabolic acidosis due to the transfer of CO_3H -ions to the shell.

Moreover, the transfer of bicarbonates slows down when the hen turns to sleep. It increases when it wakes up.

Since the pulmonary activity acts upon shell formation, we can thus explain the action of inhaled CO_2 on shell thickness. These conclusions would allow us to understand why shell are thinner in summer.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AVENPORT H. W. *The A, B, C of acid base chemistry*. The university of Chicago Press, 1962.
- FUJITA T., ORINO H., YOSHIKAWA M., MORRI H., NAKA O. K., 1965. Effect of acidosis and alkalosis on recovery from hypocalcemia. *Endocrinology*, **76**, 1202-1204.
- ELBACKA N. V., CASTERLINE J. L., SMITH C. J., 1963. The effect of high CO_2 atmosphere on the laying hen. *Poultry Sci.*, **42**, 1082-1084.
- HODGES D., 1965. *Communication personnelle*.
- MANSLEY D. G., BURGER R. E., 1964. Respiratory and cardiovascular responses in the hyperthermic domestic cock. *Poultry Sci.*, **43**, 291-305.
- MONGIN P., LACASSAGNE L., 1964. Physiologie de la formation de la coquille de l'œuf de poule et équilibre acido-basique du sang. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **258**, 3093-3094.
- MONGIN P., LACASSAGNE L., 1965. Données non publiées.

